



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第1673号
学位記番号	第1190号
氏名	坂根 理司
授与年月日	平成31年3月25日
学位論文の題名	<p>A comparative study of PD-L1 immunohistochemical assays with four reliable antibodies in thymic carcinoma (胸腺癌における PD-L1 蛋白の発現とハーモナイゼーション)</p> <p>Oncotarget, Vol. 9(6):6993-7009, 2018</p>
論文審査担当者	<p>主査： 新実 彰男 副査： 高橋 智, 中西 良一</p>

【背景および目的】

胸腺上皮性腫瘍は、その頻度は稀でありながら病理組織学的には多様である。また、確立された細胞株が存在せず、発症についての分子生物学的な解明がなされていない。それゆえ手術以外の治療法がいまだに確立されていない。

一方、programmed death 1 (PD-1)/programmed death ligand 1 (PD-L1)を標的とした免疫療法が多くの癌腫において注目され、PD-L1 高発現の非小細胞肺癌患者においては、PD-L1 低発現の患者よりも PD-1/PD-L1 阻害薬の効果が高いことが示されており、腫瘍における PD-L1 発現がこの阻害薬における効果予測因子の一つと考えられている。

非小細胞肺癌の治療薬として米国 Food and Drug Administration(FDA)の認可を受け、商品化されている 4 つの PD-1/PD-L1 阻害薬[nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab(本論文投稿時は未承認)]には独自のコンパニオン診断薬が設けられており、その診断基準はそれぞれ異なっている。

現在のところ、胸腺癌に対する PD-1/PD-L1 阻害薬を用いた免疫療法は確立されていないが、今回我々はその 4 種類のコンパニオン診断薬を用いて胸腺癌における PD-L1 蛋白の発現を評価するとともに、その免疫療法の可能性について検討した。

【患者と方法】

当施設および関連施設で治療した胸腺癌(扁平上皮癌 41 例、腺癌 4 例、リンパ上皮腫様癌 2 例)および胸腺神経内分泌腫瘍[Carcinoid 5 例、Large cell neuroendocrine carcinoma(LCNEC) 1 例]患者の計 53 例を対象とした。PD-L1 の発現は、FDA に承認されているコンパニオン診断薬である抗 PD-L1 抗体の SP142、SP263、22C3、28-8 の各クローンを用い、免疫組織学的に評価した。評価対象は腫瘍細胞(tumor cell, TC)と免疫細胞(immune cell, IC)とした。全腫瘍細胞のうち PD-L1 陽性腫瘍細胞の割合を TC スコアとして算出し、腫瘍エリアにおける PD-L1 陽性免疫細胞が占めるエリアの割合を IC スコアとして算出した。カットオフ値は肺癌における各クローンの基準を用い、SP142 は TC1%または IC1%、SP263 は TC25%、22C3 は TC1%、28-8 は TC1%とした。

【結果】

全体の傾向として、約 2/3 の症例で TC スコアが 10%以上であり、そのうち半数近い症例が TC スコア 50%以上であった。各症例における 4 クローンの比較では、SP142 が他の 3 クローンと比較して TC スコアがやや高値であったが、いずれのクローンも同様の傾向を示した。4 クローンの相関係数はいずれも 0.9 以上であり、強い相関が認められた。組織学的には腺癌と神経内分泌腫瘍では TC スコアが低値であったが、扁平上皮癌とリンパ上皮腫様癌では TC スコアが高値であった。一方、IC スコアは大半の症例で 20%未満であった。各症例において 4 クローンの相関係数は 0.4~0.9 であり、TC スコアほど強い相関を認めなかった。肺癌におけるカットオフ値を用いると、PD-1/PD-L1 阻害薬の適応となる症例はそれぞれ 92.5%(SP142)、49.1%(SP263)、64.2%(22C3)、77.4%(28-8)であった。

続いて PD-L1 発現と臨床病理学的因子を検討した。全組織型での検討では、SP142、SP263、22C3 の各クローンを用いた場合、扁平上皮癌症例は非扁平上皮癌症例よりも有意に TC スコアが高値であった。扁平上皮癌に限った検討では、SP263、22C3、28-8 の各クローンを用いた場合、TC スコア 50%以上の高発現群と、WHO ステージまたは正岡分類における早期群との間に有意な相関を認めた。扁平上皮癌患者における予後を検討したところ、いずれのクローンを用いた場合でも TC スコア 50%以上の PD-L1 高発現群で全生存期間が長い傾向を認めた。特に 22C3 クローンをを用いた場合、PD-L1 高発現群は有意に全生存期間が長く ($p=0.025$)、単変量解析においても 22C3 クローンでの PD-L1 高発現群は良好な予後因子であった。

【考察】

胸腺癌における PD-L1 発現についての報告はこれまでに 6 つ存在するが、いずれも症例数は少なく、コンパニオン診断薬を用いた報告は 1 編しかない。今回、我々は胸腺癌としては比較的多い 53 例の症例を用いて検討を行った。胸腺癌では他の癌腫よりも高頻度に PD-L1 発現を認め、胸腺癌に対する PD-1/PD-L1 阻害薬が有効である可能性が示唆された。組織学的には腺癌と神経内分泌腫瘍においては TC スコアが低値であったのに対し、扁平上皮癌とリンパ上皮腫様癌においては高値であり、肺癌や子宮頸癌と同様の傾向を示した。

本研究は肺癌以外の癌腫において世界で初めて 4 種類のコンパニオン診断薬を用いて PD-L1 発現を検討した研究である。本研究では 4 クローンの比較において SP142 の TC スコアが他の 3 クローンよりも高い傾向を示したが、これは肺癌における結果と異なる結果であった。その要因として、クローン間の差、染色や検体の条件など多くの要素が影響しており、さらなる検討が必要である。

また、本研究では PD-L1 高発現群と良好な予後との関連が示唆された。PD-L1 発現と予後との関連については、既存の 6 つの報告においても異なる結果が示されており、大規模データでの詳細な検討が今後必要である。

論文審査の結果の要旨

【発表の概略】 胸腺癌は稀な疾患の一つであり、手術以外の治療法が確立されていないため予後不良である。一方、programmed death 1 (PD-1)/programmed death ligand 1 (PD-L1)を標的とした免疫療法が多くのがんにおいて注目され、4種類のPD-1/PD-L1阻害薬が非小細胞肺癌の治療薬として米国Food and Drug Administrationの認可を受けている。著者らはこれらのPD-1/PD-L1阻害薬のコンパニオン診断薬(SP142、SP263、22C3、28-8 クローン)を用いて、胸腺癌におけるPD-L1 蛋白の発現を評価し、胸腺癌における免疫療法の可能性について検討した。評価対象は腫瘍細胞(tumor cell, TC)と免疫細胞(immune cell, IC)とした。全腫瘍細胞のうちPD-L1 陽性腫瘍細胞の割合をTCスコアとし、腫瘍エリアにおけるPD-L1 陽性免疫細胞が占めるエリアの割合をICスコアとした。対象は53例で、そのうち半数近い症例がTCスコア50%以上であった。各症例における4クローンの比較では、SP142が他の3クローンと比較してTCスコアがやや高値であったが、いずれのクローンも同様の傾向を示した。4クローンのうち2クローンごとの相関係数は0.9以上であり、いずれも強い相関が認められた。一方、ICスコアは大半の症例で20%未満であった。各症例において4クローンのうち2クローンごとの相関係数は0.4~0.9であり、TCスコアほど強い相関を認めなかった。肺癌におけるカットオフ値を用いると、PD-1/PD-L1阻害薬の適応となる症例はそれぞれ92.5%(SP142)、49.1%(SP263)、64.2%(22C3)、77.4%(28-8)であった。PD-L1発現と臨床病理学的因子との検討では、SP142、SP263、22C3の各クローンを用いた場合、扁平上皮癌症例は非扁平上皮癌症例よりも有意にTCスコアが高値であった。扁平上皮癌に限った検討では、SP263、22C3、28-8の各クローンを用いた場合、TCスコア50%以上の高発現群と、WHOステージまたは正岡分類における早期群との間に有意な相関を認めた。扁平上皮癌患者における予後を検討したところ、いずれのクローンを用いた場合でもTCスコア50%以上のPD-L1高発現群で全生存期間が長い傾向を認めた。特に22C3クローンを用いた場合、PD-L1高発現群は有意に全生存期間が長く($p=0.025$)、単変量解析においてPD-L1高発現群は良好な予後因子であった。胸腺癌では他のがんよりも高頻度にPD-L1発現を認め、胸腺癌に対するPD-1/PD-L1阻害薬が有効である可能性が示唆された。4種類のコンパニオン診断薬において、腫瘍細胞におけるPD-L1発現について高い一致率を認めた。また、胸腺癌におけるPD-L1発現は良好な予後因子である可能性が示された。

【審議の内容】 主査の新実教授より、①Surgical ケースと non-surgical ケースとの間での、組織のサイズ差によるバイアスについて、②TCスコアと ICスコアのそれぞれのスコアリング方法について、③実臨床への応用や、臨床試験の内容について、等8項目の質問があった。第一副査の高橋教授より、①4抗体のエピトープの違いについて、②扁平上皮癌においてPD-L1発現による組織学的な差異について、③免疫細胞におけるスコアリングの意義について、等8項目の質問があった。第二副査の中西教授より、①縦隔腫瘍において、部位別の好発腫瘍の病態とその外科治療戦略について、②胸部悪性腫瘍に対する手術の最近の進歩について、の2項目の質問があった。いずれの質問に対しても概ね十分な回答が得られ、本研究領域について深く理解すると共に、専攻分野に関する知識を習得しているものと判断された。よって本論文の著者には博士(医学)の学位を授与するに値すると判断した。